VIABILIDADE E GERMINAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN DE ATA (Annona squamosa L.) SUBMETIDOS À DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

SARA THIELE MOREIRA SOBRAL¹; POLLYANA CARDOSO CHAGAS²; DÉBORA DE SOUZA DEMÉTRIO ¹; MARIA ISABEL GARCIA RIBEIRO³; DIGELMA CAMILA BARROS ARAÚJO ³

INTRODUÇÃO

As flores de *Annona squamosa* L. são hermafroditas, axilares, com cálice e corola carnosos, formando uma câmara floral, que funciona como abrigo, fonte alimentar e/ou local de acasalamento para os visitantes florais. As flores se apresentam na fase feminina nas primeiras 20 horas e em fase masculina nas 20 horas seguintes, caracterizando a dicogamia (KILL; COSTA, 2003).

A germinação de pólen in vitro permite a análise da capacidade de emissão do tubo polínico e uma correlação dessa taxa com a viabilidade do grão de pólen. A composição do meio de cultura favorável à germinação *in vitro* é diferente para cada espécie, mas geralmente contempla um agente solidificante (ágar ou gelatina, dentre outros), açúcar e, em certos casos, nutrientes em concentrações específicas, devendo ser investigada para cada espécie (SOUSA, SCHEMBERG, AGUIAR, 2010).

A conservação dos grãos de pólen é, portanto, de grande importância para a preservação da variabilidade genética além de facilitar o intercâmbio de germoplasma, contribuir significativamente na geração de variabilidade obtida através de cruzamentos artificiais e aumentar a eficiência dos programas de melhoramento (GOMES et al., 2003).

OBJETIVOS

Estudar a viabilidade e germinação de grãos de pólen de ata (*Annona squamosa* L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi executado em um pomar comercial de ata implantado no Sítio Paricarana, município do Cantá-RR. As plantas foram podadas no mês de janeiro de 2015.

Os testes de viabilidade e germinação de grãos de pólen foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Roraima. Para o estudo da viabilidade e germinação dos grãos de pólen, foram coletadas, às 17 horas, 100 flores em fase fêmea, escolhidas aleatoriamente. As flores foram deixadas em uma bandeja plástica, em camada única, à temperatura ambiente.

¹ Graduando do curso de Agronomia, Universidade Federal de Roraima, E-mail: <u>sara.eagro@hotmail.com</u>; <u>deborawdemetrio@hotmail.com</u>;

² Professora, Dra., do curso de Agronomia da Universidade Federal de Roraima, E-mail: pollyana.chagas@ufrr.br;

³ Pós graduando – POSAGRO, Universidade Federal de Roraima, E-mail: <u>bel_s.g@hotmail.com</u>; digelmacamila@hotmail.com;

A partir das 7h da manhã do dia seguinte, período em que as flores se encontravam no estádio masculino, foram separados os grãos de pólen, e divididos em partes iguais e acondicionados em recipientes plásticos que, depois de fechados, foram identificados como 'pólen refrigerado' mantido refrigerado em geladeira, com temperatura entre 5°C e 7°C e 'pólen ambiente' armazenado em temperatura próxima de 27°C.

A primeira avaliação foi realizada às 8h da manhã, logo após a coleta e acondicionamento do pólen. As demais avaliações foram realizadas com 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas após o acondicionamento dos grãos de pólen. Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen, foi utilizado o método de coloração dos grãos de pólen com 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazólio (TTC).

No teste de germinação, foi utilizado o meio de cultura padrão descrito por Brewbaker e Kwack (1963), com adição de 0,7% de Agar com pH 7,0 e sacarose a 10%, de acordo com a metodologia utilizada por Loguercio (2002). O meio foi distribuído em placas de Petri.

Após a inoculação do pólen, a placa de Petri foi deixada sob condições de temperatura ambiente (27°C), conforme recomendações de Lorenzon e Almeida (1997). A análise foi realizada quatro horas após a inoculação. Para a visualização do tubo polínico, foi utilizada a técnica adaptada, descrita por Almeida et al. (2004). Foi acrescentada uma gota de azul-de-algodão a 1% na lâmina, sendo feita a contagem do pólen germinado.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x7, sendo 2 condições de armazenamento (pólen ambiente e pólen refrigerado) e 7 horários distintos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24) para ambas as condições de armazenamento. Para o teste de viabilidade foram 3 repetições, sendo cada repetição constituída por uma lâmina inoculada, e para germinação 4 repetições, sendo cada repetição constituída por um quadrante da Placa de Petri. Os grãos de pólen foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10x e 40x. As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos quantitativos submetidos à regressão polinomial e os qualitativos pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade dos grãos de pólen

Para o teste de viabilidade de grãos de pólen de Ata, verificou-se que não houve diferença significativa entre as condições de armazenamento, tanto para pólen refrigerado (5°C e 7°C) como para pólen a temperatura ambiente (em torno de 27°C). Segundo Alexander (1980), a análise da viabilidade dos grãos de pólen baseia-se em sua coloração e na integridade do núcleo (Tabela 1).

Tabela 1. Viabilidade de grãos de pólen de Ata, em diferentes condições de armazenamento. Boa Vista-RR, 2016.

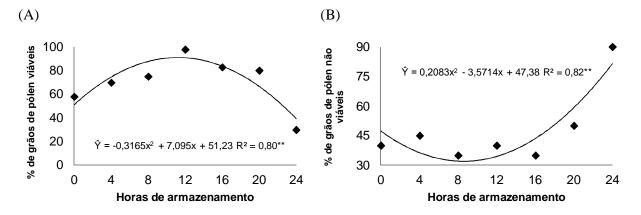
Porcentagem de grãos de pólen		
	Pólen viável (%)	Pólen Não viável (%)
Refrigerado	70,47 a	29,52 a
Ambiente	56,04 a	43,95 a

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Em experimento realizado por Neto et al. 2009, onde observaram a conservação de pólen de anonas, verificaram que o pólen fresco apresentou uma maior viabilidade. Também, avaliando a conservação de grãos de pólen de mamoneira Cuchiara et al. (2012) demostraram que o armazenamento do pólen a 4°C não foi eficiente, ocasionando redução drástica na viabilidade polínica quando comparado ao pólen fresco.

A figura 1 (A e B) apresenta a análise de regressão para porcentagem de grãos de pólen viáveis e não viáveis em função dos diferentes horários de armazenamento. Verificou-se um efeito quadrático, nos primeiros horários de armazenamento, houve um aumento na porcentagem de grãos de pólen viáveis, e a partir das 24 horas os grãos de pólen perderam sua viabilidade.

Figura 1. Porcentagem de grãos de pólen viáveis (A) e não viáveis (B) em função dos diferentes horários de armazenamento.



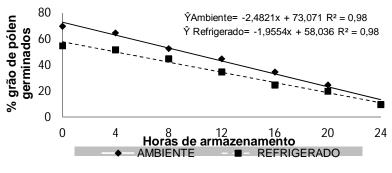
Germinação dos grãos de pólen

A análise de regressão para porcentagem de grãos de pólen germinados (Figura 3) em função dos diferentes horários e condições de armazenamento apresentou efeito linear decrescente, tanto para condição de temperatura ambiente (± 27°C) quanto para refrigerado (5°C e 7°C). O aumento do período de armazenamento do pólen ocasionou diminuição na porcentagem de tubos polínicos germinados.

Em trabalho realizado por Franzon et al. 2006, com cerejeira-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC), testando germinação *in vitro* e armazenamento de pólen, foram obtidos resultados satisfatórios após a inoculação, e incubação à temperatura constante de 25°C. Pio et al. 2004,

trabalhando com grãos de pólen de laranjas-doces em condições diferentes de armazenamento, observaram que os grãos de pólen apresentaram redução na viabilidade. O aumento do tempo de armazenamento em freezer (-10°C) proporcionou maior eficiência do que o armazenamento em refrigerador (4°C) e à temperatura ambiente.

Figura 3. Porcentagem de grãos de pólen germinados em função dos diferentes horários e condições de armazenamento.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que o acondicionamento de grãos de pólen de ata, não teve diferença nas condições de armazenamento, tanto ambiente (em torno de 27°C) como refrigerado (5°C e 7°C). E para grãos de pólen até 12 horas após a coleta ainda continuam viáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, O. S.; SILVA, A. H. B.; SILVA, A. B.; AMARAL, C. L. F. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavação (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético. **Acta Scientiarum. Biological Sciences.** V.26, n.3, p.343-348, Maringá, 2004.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A Computer Statistical Analysis System. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- GOMES, P.R.; RASEIRA, M. do C.B.; BAUDET, L.L.; PESKE, S.T. Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p14-17, 2003.
- KILL, L. H. P.; COSTA, J. G. da. Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) na região de Petrolina-PE. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 851-856, 2003.
- LOGUERCIO, L. L. Pollen treatment in high osmotic potencial: a simple tool for *in vitro* preservation and manipulation of viabitily in gametophytic populations. **Braz. Journal Plant Physiology**., v.14, n.1, p.65-70, 2002.
- LORENZON, M. C. A.; ALMEIDA, E. C. Viabilidade e germinação do pólen de linhagens parentais de cebola híbrida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** V.32, n.4, p.345-349, Brasília, 1997.
- SOUSA, V. A. DE; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação *in vitro* do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham). **Sci. Forestal.** v. 38, n. 86, p. 147-151.Piracicaba, jun. 2010.
- ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for polle fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**. V.55. p. 13-1.1980.
- CUCHIARA, C. C., DOS ANJOS, S. D., Bobrowski, V. L. Conservação de grãos de pólen de mamoneira a baixas temperaturas. **Ceres** 59.1 (2015).
- PIO, L. A. S., RAMOS, J. D., PASQUAL, M., JUNQUEIRA, K. P., SANTOS, F. C., RUFINI, J. C. M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. *Ciência e Agrotecnologia*, *31*(1), 147-153 (2007).
- NETO, J. E. B., DEL NERO, M., KAVATI, R., PINTO-MAGLIO, C. A. F.. viabilidade e conservação de pólen de três anonas comerciais . *Bragantia*, 68(4), 825-837 (2009).
- FRANZON, R. C., RASEIRA, M. D. C. B.. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de Eugenia involucrata DC (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(1), 18-20 (2006).